

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1962

THÈSE

N°

176

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Mireille MORIN, née JOMAIN

Née le 21 Juin 1935, à Roanne (Loire)

Présentée et soutenue publiquement le 27 février 1962

Quelques aspects de la clarification sanguine
Etudes des propriétés
d'un nouvel héparinoïde de synthèse : 8061 CB

Président : M. PARROT, Professeur

I M P R I M E R I E
R. FOULON & C^{ie}
29, RUE DEPARCIEUX, 29
PARIS — 1962

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1962

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Mireille MORIN, née JOMAIN

Née le 21 Juin 1935, à Roanne (Loire)

Présentée et soutenue publiquement le 27 février 1962

Quelques aspects de la clarification sanguine
Etudes des propriétés
d'un nouvel héparinoïde de synthèse : 8061 CB

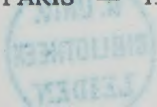
Président : M. PARROT, Professeur

I M P R I M E R I E

R. FOULON & C^{ie}

29, RUE DEPARCIEUX, 29

PARIS — 1962



PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Alajouanine (T.), Aubin (A.), Bénard (H.), Bulliard (H.), Cadenat (F.), Chabrol (E.), Champy (C.), Debré (R.), Fey (B.), Gastinel (P.), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Lantuejoul (P.), Laroche (G.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Mathieu (P.), Mocquot (P.), Mondor (H.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Olivier (E.), Pasteur Valléry-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Quénu (J.), Richet (C.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.).

DOYEN : Léon BINET, *Membre de l'Institut*

1^{er} ASSESSEUR : Jean VERNE — 2^e ASSESSEUR : Gaston CORDIER

I. — PROFESSEURS

1^o CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) PROFESSEURS TITULAIRES :

MM.

Anatomie	DELMAS (A.)
Anatomie pathologique	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.), SCHAPIRA (G.)
Biologie appliquée à l'Educat. phys. et aux Sports	CHAILLEY-BERT (P.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Cancérologie médicale et sociale	BERNARD (J.)
Embryologie	GIROUD (A.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie (Lariboisière)	N...
Histologie	VERNE (J.)
Hygiène et médecine préventive	JOANNON (P.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	PIEDELIEVRE (R.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)
Parasitologie	GALLIARD (H.)
Pathologie chirurgicale	HUGUIER (J.)
Pathologie exotique	LAVIER (G.)
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	MILLIEZ (P.)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	BOUDIN (G.)
Pharmacologie	CHEYMOL (J.)
Physiologie	BINET (L.), BARGETON (D.)
Physiologie et pathologie obstétricale	LEPAGE (F.)
Physique médicale	DOGNON (A.), DJOURNO (A.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale ..	N...
Thérapeutique	CONTE (M.)

b) PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL :

Biochimie médicale	DESGREZ (P.), POLONOVSKI (J.)
Biologie médicale	BOURLIÈRE (F.)
Embryologie	TUCHMANN (H.)
Hygiène et médecine préventive	DEPARIS (M.)
Parasitologie	BRUMPT (L.C.)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
Pharmacologie	LÉVY (Mlle J.)
Physiologie	PARROT (J.)
Physique médicale	KELLERSHOHN (L.)



2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) PROFESSEURS TITULAIRES :

MM.

Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)	REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)	MOUQUIN (M.)
Cliniques chirurgicales :	
<i>Beaujon</i> : LORTAT-JACOB (J.-L.) — <i>Cochin</i> : LÉGER (L.) — <i>Hôtel-Dieu</i> : PATEL (J.)	
— <i>Pitié</i> : CORDIER (G.) — <i>Saint-Antoine</i> : GOSSET (J.) — <i>Salpêtrière</i> : SICARD (A.)	
— <i>Tenon</i> : OLIVIER (Cl.)	
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)	FÈVRE (M.)
Clinique chirurg. orthopédique et réparat. (Cochin)	MERLE D'AUBIGNÉ (R.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais) . .	GAUDART D'ALLAINES (F. DE)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laënnec) . .	MATHEY (J.)
Clinique endocrinologique (Pitié)	DECOURT (J.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades) .	LAMY (M.)
Clinique gynécologique (Broca)	FUNCK-BRENTANO (P.)
Clinique des maladies cutanées et syphilit. (St-Louis)	DEGOS (R.)
Clinique des maladies des Enfants (Enfants-Malades)	CATHALA (J.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard) .	MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)	DELAY (J.)
Clinique des maladies métaboliques (Necker)	HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)	MARCHAL (G.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)	CASTAIGNE (P.)
Cliniques médicales :	
<i>Boucicaud</i> : LENÈGRE (J.) — <i>Broussais</i> : SOULIÉ (P.) — <i>Cochin</i> : JUSTIN-BESANÇON (L.) :	
BROUET (G.) — <i>Hôtel-Dieu</i> : BARIÉTY (M.) — <i>Lariboisière</i> : SÈZE (S. DE) — <i>Pitié</i> :	
DREYFUS (G.) — <i>Saint-Antoine</i> : KOURILSKY (R.)	
Clinique médicale d'hydrologie thérapeutique et climatologie (Bichat)	DEBRAY (C.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)	GENNES (L. DE)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu)	DEROT (M.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	DAVID (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	GARCIN (R.)
Cliniques obstétricales :	
<i>Baudelocque</i> : LACOMME (M.) — <i>Foch</i> (Suresnes) : MERGER (R.)	
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal) .	VARANGOT (J.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)	RENARD (G.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière) . .	AUBRY (M.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)	LELONG (M.)
Clinique de pédiatrie sociale (Enfants-Malades) . .	MARIE (J.)
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laënnec)	BERNARD (E.)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière) .	MICHAUX (L.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	COSTE (F.)
Clinique stomatologique (Pitié)	DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard) . .	ROUX (M.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine) . .	LEMAIRE (A.)
Clinique toxicologique	GAULTIER (M.)
Clinique traumatologique	PADOVANI (P.)
Séméiologie médicale	DOMART (A.)
Séméiologie et clinique chirurgicales	POILLEUX (F.)
Clinique urologique (Necker)	COUVELAIRE (R.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)	TURPIN (R.)

b) PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL :

Médecine	BOUR (H.), LHERMITTE (F.), PEQUIGNOT (H.)
--------------------	--

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE, PROFESSEURS AGREGES ET MAITRES DE CONFERENCES-AGREGES

Anatomie :

MM. CABROL (C.); COUINAUD (C.);
GILLOT (C.); OLIVIER (G.).

Anatomie pathologique :

Mlle GAUTHIER-VILLARS (P.), *pr. s. ch.*; MM. ABELANET (R.); BUSSER (F.); CHOMETTE (G.); GOUYGOU (Ch.), *m. conf.*; NEZELOFF (Ch.); ORCEL (L.); PAILLAS (J.).

Anesthésiologie :

MM. KERN (E.); VOURC'H (G.).

Bactériologie :

MM. BARBIER (P.); CHRISTOL (D.);
LE MINOR (L.); TOURNIER (P.).

Biochimie médicale :

MM. BAULIEU (Et.), *m. conf.*; BOURILLON (R.); CARTIER (P.); DREYFUS (J.-Cl.); GONNARD (P.); KRIH (J.); JÉROME (H.).

Biologie appliquée à l'Education Physique et aux Sports : M. PLAS (F.).

Carcinologie :

MM. BOIRON (M.); DENOIX (P.);
MATHÉ (G.); SELIGMANN (M.).

Dermato-Syphiligraphie :

MM. CIVATTE (J.); DUPERRAT (B.).

Electro-Radiologie :

M. LEDOUX-LEBARD (G.).

Hématologie :

MM. BESSIS (M.); BILSKI-PASQUIER (G.); DAUSSET (J.); DUHAMEL (G.).

Histologie :

MM. COUJARD (R.), *pr. s. ch.*;
MAROIS (M.); RACADOT (J.).

Hydrologie :

MM. BESANÇON (F.); CORNET (A.).

Hygiène :

MM. BOYER (J.), *pr. s. ch.*; BLANCHER (G.); Mlle CORRE-HURST (L.);
M. SAPIN-JALOUSTRE (H.).

Maladies infectieuses :

MM. BASTIN (R.); DUPONT (V.).

Médecine légale :

MM. DEROBERT (L.), *pr. s. ch.*;
FOURNIER (E.); GUENIOT (M.); HADENGUE (A.).

Médecine du travail : M. ALBAHARY (C.).

Neuro-chirurgie : M. PERTUISSET (B.).

Obstétrique :

MM. GRANJON (A.); HERVET (E.);
LE LORIER (G.); LÉVY (J.); MORIN (P.); MUSSET (R.); ROBEY (M.);
SENÈZE (J.); SUREAU (C.); THOYER-ROZAT (J.).

Ophthalmologie :

MM. BRÉGEAT (P.); DUBOIS (A.);
SARAUX (H.).

Orthopédie :

MM. JUDET (R.); MEARY (R.); POSTEL (M.); RAMADIER (J.).

Oto-rhino-laryngologie :

MM. DEBAIN (J.); PIALOUX (P.).

Parasitologie :

MM. GOLVAN (Y.); LAPIERRE (J.).

Pathologie chirurgicale :

MM. BARCAT (J.); BINET (J.-P.);
CAUCHOIX (J.); CERBONNET (G.);
CHATELIN (C.-L.); DUBOST (Ch.);
DUBOST (Cl.); FAUREL (J.); FLABEAU (F.);
GARBAY (M.); GARNIER (H.);
GAUDART D'ALLAINES (Cl. de); GERMAIN (A.); LATASTE (J.); LÉVÊQUE (B.);
LOYGUE (J.); MERCADIER (M.); NATALI (J.);
PELLERIN (D.); PERROTIN (J.);
ROBERT (H.); THOMERET (G.).

Pathologie exotique : M. SCHNEIDER (J.).

Pathologie expérimentale :

MM. BENHAMOU (J.-P.); BERTHAUX (P.);
BOIVIN (P.); CROSNIER (J.);
HARTMANN (L.); LÉPER (J.); MAURICE (J.);
MIKOL (Cl.); RICHT (G.).

Pathologie médicale :

MM. AUSSANNAIRE (M.); BOUVIER (J.);
BOUVRAIN (Y.); BRICAIRE (H.);
BRISAUD (H.); BROCARD (H.); BUGE (A.);
CATINAT (J.); CHRÉTIEN (J.);
COBLENTZ (B.); CONTAMIN (F.); COURY (C.);
ETIENNE (J.-P.); FREZAL (J.);
FRITEL (D.); HENNEQUET (A.); HIMBERT (J.);
HOUSSET (E.); LAROCHE (Cl.);
LESOBRE (R.); MACREZ (C.);
MOREAU (L.); NICK (J.); ROYER (P.);
TOURNEUR (R.); WOLFROMM (R.).

Pédiatrie-Puériculture :

MM. JOSEPH (R.); LAFOURCADE (J.);
LEPERCQ (G.); MANDE (R.); MOZZICONACCI (P.);
POLONOVSKI (C.); ROSIER (A.); VIALATTE (J.).

Pharmacologie :

MM. BOISSIER (J.); LECHAT (P.).

Physiologie :

MM. BARRES (G.); DEJOURS (P.);
DURAND (J.); GIRARD, *m. conf.*;
HUGELIN (A.); SCHERRER (J.).

Physique médicale :

MM. CHANTEUR (J.); GOUGEROT (L.),
m. conf., *pr. s. ch.*; GREMY (F.), *m. conf.*;
MILHAUD (G.); PELLERIN (P.);
ROUCAYROL (J.-Cl.); TUBIANA (M.),
m. conf.

Pneumo-physiologie :

MM. KREIS (B.); MEYER (A.);
RENAULT (P.).

Psychiatrie : M. PICHOT (P.).

Psychiatrie infantile :

MM. DENIKER (P.); DUCHÉ (D.);
FLAVIGNY (H.); LAPRESLE (J.).

Rhumatologie : M. DELBARRE (F.).

Stomatologie :

M. CERNÉA (P.); Mme CHAPUT (A.),
m. conf. agr.; M. GRELLET (M.).

Thérapeutique :

MM. CHASSAGNE (P.); LAMOTTE (M.);
MARCHE (J.).

Urologie :

MM. AUVERT (J.); MOULONGUET (A.);
QUENU (L.).

**III. — PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGREGES
CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE
A TITRE PERMANENT**

Anatomie : M. DEBEYRE (J.).

Clinique chirurgicale :

MM. ABOULKER (P.); AMELINE (A.),
pr. s. ch.; VERNE (J.-M.).

Clinique médicale :

MM. PERRAULT (M.); RAMBERT (P.);
THIEFFRY (S.).

Clinique obstétricale :

MM. GRASSET (J.); MAYER (M.).

Clinique ophtalmologique :

MM. DESVIGNES (P.); OFFRET (G.).

Clinique oto-rhino-laryngologique :

M. MADURO (R.).

Clinique pédiatrique et puériculture :

M. LAPLANE (R.).

Clinique psychiatrique : M. BARUK (H.).

Clinique urologique : M. KUSS (R.).

**IV. — PROFESSEURS DETACHES
DANS LES UNIVERSITES ETRANGERES**

Bactériologie M. HAUDUROY (P.), *prof. sans chaire*

Pathologie chirurgicale M. RUDLER (J.), *prof. sans chaire*

**V. — CHARGES DE COURS
D'HYGIENE SCOLAIRE ET UNIVERSITAIRE**

M. BOLTANSKI (E.) — M. LAUNAY (C.)

Secrétaire général de la Faculté

M. LENA (J.)

Secrétaire principal

Mlle CHAINTREUIL (G.)

Conservateur en Chef de la Bibliothèque,
Conservateur du Musée d'Histoire de la
Médecine

M. le Docteur HAHN (A.)

Conservateur

Mlle DUMAITRE (P.)

Bibliothécaires

Mmes CONTET (J.), FORGET (F.),
Mlles LAURENT (H.), LE NOIR (G.),
QUIÉVREUX (E.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MA GRAND-MÈRE ET A MES PARENTS

A MON MARI

AUX AMIS CHERS

que la vie m'a permis de rencontrer

POUR MON FILS, ÉRIC

A MONSIEUR LE PROFESSEUR J.-L. PARROT

Professeur de Physiologie
à la Faculté de Médecine de Paris
Chevalier de la Légion d'Honneur

*Qui a bien voulu me faire l'honneur de
présider le jury de cette thèse.*

*Je tiens à l'assurer de mon profond
respect.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR R. JACQUOT

Directeur du Centre de Recherches de la Nutrition
du C.N.R.S.

Qui m'a accordé le privilège de bénéficier de son enseignement et de ses critiques constructives au sujet de cette étude.

Qu'il soit assuré de ma respectueuse gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR M. BRUNAUD

Professeur des Ecoles Vétérinaires

*Qui a eu la bienveillance de m'apporter
son concours éminent dans l'élaboration de
ce travail.*

*Qu'il veuille bien trouver ici l'expression
de ma profonde reconnaissance.*

A MADAME LE DOCTEUR V. SEGAL

A MONSIEUR R. RAVEUX

Chef de Travaux à l'Institut National Agronomique

A MONSIEUR LE DOCTEUR P. GUILLEMAN

Médecin des Hôpitaux Militaires

*Dont la collaboration a été inappréciable.
Je n'oublierai jamais l'aide qu'ils ont bien
voulu m'accorder.*

INTRODUCTION

L'athérosclérose est une lésion qui n'est révélée cliniquement que lorsque apparaissent des complications (angor pectoris ou infarctus du myocarde). Aussi, différentes équipes de chercheurs se sont-elles appliquées à mettre en évidence un syndrome humoral de cette affection.

La cholestérolémie n'est augmentée que dans 65 % des cas (KEYS). L'hypercholestérolémie existe, d'autre part, en dehors de toute affection athéromateuse. Aucun autre test proposé (augmentation des β -lipoprotéines ou du cholestérol dans cette fraction β) n'est plus considéré comme spécifique de la maladie. Seul un ensemble de modifications sanguines inconstantes prises isolément peut constituer le syndrome humoral de l'athérosclérose.

Différentes études statistiques ont essayé de rapprocher la nature de certains types alimentaires, la mortalité par affections dégénératives cardiovasculaires et les modifications biologiques concomitantes.

Depuis 1901, les statisticiens des compagnies d'assurances américaines observaient la diminution de la durée de vie chez les obèses (GUBNER [20]).

En Europe, certains auteurs remarquaient que 32 % des obèses mouraient d'affections cardiovasculaires. Sans établir de rapport de cause à effet, il existe une relation statistique entre les maladies dégénératives cardiovasculaires et l'obésité. On a prétendu (GUBNER [20]) que la quantité et la nature des lipides alimentaires jouaient un rôle dans le taux de la cholestérolémie, l'ingestion d'huiles riches en acides gras essentiels, telle l'huile de maïs (50 g par jour pour un adulte), ferait diminuer le taux normal et pathologique du cholestérol sanguin. Ce point de vue a prêté à discussion. De même, le rôle du cholestérol alimentaire et celui des protéines semblent très discutables et même susceptibles d'être éliminés d'après les récentes études de KEYS et coll. [3, 4, 9, 10, 26, 27]. La lipémie a été moins souvent choisie comme critère dans les études de ce genre. Cependant, on a

pu montrer que l'élévation post-prandiale des lipides sériques est plus marquée, et que le retour à la normale est plus lent chez l'athéromateux. D'autre part, nous devons citer les travaux intéressants de l'école allemande, en particulier ceux de TRUMMERT [42]. Cet auteur accorde aux lipides sériques une importance de beaucoup supérieure à celle de la cholestérolémie. Les résultats se rapportant à la phosphorémie sont encore imprécis [15 et 16].

Un des tests le plus valable, à l'heure actuelle, repose sur l'étude des lipoprotéines sériques. Ces lipoprotéines — dont nous reprendrons ultérieurement une étude détaillée — sont trouvées modifiées dans l'athérome.

Tous les auteurs sont d'accord pour observer :

- une diminution de l'albumine ;
- une diminution des α -lipoprotéines ;
- une augmentation des β -lipoprotéines [6].

D'autre part, plusieurs études se sont attachées à l'athérome expérimental sous l'angle des facteurs physio-pathologiques (hypertension artérielle, ischémie rénale), hormonaux (D.O.C.A., adrénaline, œstrogènes, cortisone, hormone thyroïdienne) et nutritionnels, que nous préciserons plus spécialement.

A la suite des travaux d'ANITSCHTOV, certains auteurs ont observé des athéromes chez le lapin par surcharge du régime en cholestérol, alors que cet animal herbivore n'a dans des conditions physiologiques aucun apport exogène de cette substance. De même, KATZ et STAMLER [25], BALATRE et MERLEN [5] en particulier, ont décrit un athérome expérimental chez le poulet soumis à un régime riche en lipides et en cholestérol. Les lésions observées étaient très caractéristiques et de nature voisine de celles observées en clinique humaine ; leur importance semblait en relation avec la richesse du régime en cholestérol.

L'équipe de travail de BEST et coll. [22, 43, 44, 45] a observé des lésions aortiques et coronaires sur le rat adulte nourri depuis cinq à sept mois avec un régime pauvre en choline et riche en graisses de porc ou de bœuf (40 %). Des lésions vasculaires aiguës apparaissaient dès la seconde semaine de régime et des lésions chroniques de même ordre, mais plus discrètes, étaient observées après quelques mois. L'addition de chlorure de choline à 0,85 % les supprimaient.

Parallèlement, des auteurs français (BRUNAUD [11], JACQUOT [23, 24] et TRÉMOLIÈRES [41]) ont provoqué un athérome expérimental chez le rat soumis à un régime hyperlipidique et hyperprotéique (66 % de calories lipidiques et 23 % de calories protéiques). Les graisses du régime au saindoux) contenaient essentiellement des acides

gras saturés. Ces auteurs avaient choisi ce type de régime comme étant une « caricature » des habitudes diététiques retrouvées en clinique humaine chez les malades porteurs de lésions athéromateuses. Ce régime excitait l'appétit du rat dont la consommation dépassait d'un tiers environ celle des témoins.

Cette nourriture ne comportait pas de carence en choline ni en méthionine, mais une carence relative en pyridoxine. Lorsqu'on substituait au saindoux de l'huile de tournesol ou d'œillette, on obtenait des résultats opposés. Le rendement alimentaire était notamment plus réduit. L'étude de la fixation de ^{131}I montra que les rats nourris à l'huile d'œillette étaient en état d'hyperfonctionnement thyroïdien par rapport aux animaux nourris au saindoux. Ils ne présentaient qu'une élévation très tardive et réduite des lipoprotéines. Tout se passait comme si la mobilisation et la combustion des graisses de réserves riches en acides gras essentiels étaient particulièrement actives. Cependant, l'emploi de diverses huiles riches en acides gras essentiels a conduit à des résultats plus nuancés. Il semble que d'autres facteurs entrent en jeu dans l'étiologie des maladies cardiovasculaires.

De ces travaux, il ressort néanmoins que les régimes hyperlipidiques (avec graisses saturées) et hyperprotéiques amènent, chez le rat, une accumulation lipidique dans le sang et l'intima artérielle et que les mêmes types de régime où les acides gras essentiels remplacent les graisses saturées ne conduisent pas aux mêmes troubles. En plus des lésions anatomo-pathologiques précitées avec les régimes riches en acides gras saturés, ces auteurs ont observé une modification de la cholestérolémie en cas d'apport exogène de cholestérol et une transformation du lipidogramme.

Par cette revue bien succincte, encore, des différentes connaissances se référant à l'aspect nutritionnel de l'athérome, nous pouvons constater principalement que son syndrome biologique est assez complexe et qu'aucun signe biochimique n'a de valeur absolue en lui-même ; ce n'est que leur ensemble qui peut constituer un faisceau de preuves en faveur du diagnostic.

Nous nous sommes attachés dans le travail que nous allons exposer, à l'étude d'un des phénomènes : l'hyperlipémie sanguine retrouvée de façon constante dans l'athérome expérimental observé en cas de régime hyperlipidique et hyperprotidique. Nous avons spécialement étudié un nouveau mode de clarification sanguine obtenue par l'injection d'un héparinoïde de synthèse : le 8061 CB.

CHAPITRE PREMIER

Dans cette partie, nous présenterons tout d'abord un aperçu des techniques classiques concernant les séparations des lipoprotéines, puis un historique de la clarification sanguine.

I. — MÉTHODES GÉNÉRALES D'ÉTUDE DES LIPOPROTÉINES

A) ULTRACENTRIFUGATION

Comme son nom l'indique, *l'ultracentrifugation préparative* permet de recueillir dans le sérum des fractions de densité variable. Les lipoprotéines se trouvent dans le liquide surnageant car elles sont moins denses que les autres constituants sériques.

La méthode classique de GOFMAN [17, 31, 32] conduit à pratiquer une série de trois ultracentrifugations :

- à la première, on obtient des lipoprotéines de densité inférieure à 1,007 ;
- à la seconde, on obtient les lipoprotéines de densité comprise entre 1,007 et 1,063 ;
- à la troisième, on recueille celles de densité comprise entre 1,063 et 1,20.

Les protéines non lipidiques sont recueillies dans la fraction inférieure lors de la dernière opération. L'ultracentrifugation pratiquée à la densité 1,063 permet la distinction entre deux groupes fondamentaux : les β -lipoprotéines qui sont les lipoprotéines de faible densité, inférieure à 1,063, et les α -lipoprotéines qui sont les lipoprotéines de forte densité, supérieure à 1,063.

L'ultracentrifugation analytique est faite à partir des échantillons obtenus lors d'une ultracentrifugation préparative préalable, unique.

à la densité $d = 1,063$ si l'on suit la méthode de GOFMAN. Cette couche flottante ne contient que des lipoprotéines de basse densité, c'est-à-dire des β -lipoprotéines.

L'ultracentrifugation est pratiquée à 26°C pendant moins d'une heure sous un champ de force de 200.000 à 250.000 g. Il se forme ainsi dans le tube de centrifugation, un plan de démarcation qui sépare le fond d'où les lipoprotéines ont émigré et la couche flottante contenant les lipoprotéines. En réalité, ce « plan » n'est qu'une « zone » de démarcation, car il intervient un phénomène de diffusion. Un dispositif optique permet d'enregistrer les fractions de lipoprotéines au fur et à mesure de leur déplacement dans le tube. Cette même méthode amène d'autre part à préciser la valeur de la constante de flottation :

$$1 \text{ SVEDBERG} = 1 \times 10^{-13} \text{ unité CGS}$$

B) ELECTROPHORESE DE ZONE

L'électrophorèse de zone permet de séparer les lipoprotéines d'après leur mobilité dans un champ électrique. Les différentes charges électriques des diverses protéines leur confèrent une vitesse variable dans ce champ. Cette vitesse est fonction des conditions expérimentales (pH, tampon, force ionique, concentration en lipoprotéines et mobilité propre des protéines étudiées). Il faut distinguer deux notions précises : la vitesse qui dépend des conditions expérimentales et la mobilité qui est la caractéristique intrinsèque de la protéine. Cependant, la terminologie classique fait qu'on emploie l'expression « mobilité » à l'occasion des mesures expérimentales de vitesse des protéines soumises à un champ électrophorétique.

Plusieurs techniques peuvent être mises en œuvre, qui diffèrent par la sensibilité et la différenciation des constituants du sérum ; l'électrophorèse de zone sur papier, l'électrophorèse sur amidon ou sur résine polyvinylique, l'électrophorèse sur gélose avec sa modification appelée immunoélectrophorèse. Si l'on obtient une concordance excellente entre les résultats obtenus par l'électrophorèse sur papier et l'ultracentrifugation, il est plus difficile d'établir la correspondance entre les fractions obtenues par ultracentrifugation et les électrophorèses sur amidon ou gélose (KUNKEL et TRAUTMAN [30]). L'électrophorèse sur papier a été utilisée dans l'étude de l'athérome expérimental par de nombreux auteurs, ainsi que lors de travaux effectués au sujet du syndrome biologique de l'athérome en clinique humaine. A titre d'exemple, nous citerons les études de BARR, RUSS et EDE [6].

C) PRECIPITATION FRACTIONNEE

On peut séparer les lipoprotéines d'un mélange en faisant varier convenablement différents facteurs qui influent sur la solubilité relative de chacune d'elles et qui sont les suivants :

- la concentration saline qui augmente la solubilité aux faibles concentrations par le jeu de la force ionique et qui diminue cette solubilité aux fortes concentrations car, à ce stade, l'effet de la force ionique est minime en face de celui de la non-solubilité due à la faible quantité d'eau disponible ; en effet, les ions de la solution saline fixent une grande partie de l'eau du milieu et en laissent peu en vue de la liaison protéine-eau ;
- le pH : la solubilité d'une protéine est la plus faible au voisinage de son point isoélectrique ;
- l'addition d'acétone ou d'alcool réduit la solubilité des protéines.

Ainsi COHN et coll. [14] ont établi une méthode classique par fractionnement à froid. La séparation en cinq fractions se fait en utilisant simultanément les divers facteurs : concentration en éthanol, pH, force ionique, concentrations en protéines, température. Les α -lipoprotéines se trouvent dans la fraction IV et les β -lipoprotéines dans les fractions II et II. Par cette technique, on ne peut obtenir les lipoprotéines α ou β à l'état pur, mais la séparation est déjà intéressante et permet d'utiliser ces fractions pour les étudier par ultracentrifugation analytique.

On peut, d'autre part, séparer les β -lipoprotéines par formation de complexes avec des macro-molécules polyanioniques. A ce sujet, nous pouvons citer les travaux de BERNFELD [7] et les méthodes néphélométriques de BERNSTEIN et SAMAILLE [12] et de BERNFELD [8].

Nous voyons ainsi l'intérêt de ces différentes méthodes, intérêt qui réside essentiellement dans les recoupements certains que l'on obtient en abordant ces séparations par des voies différentes.

II. — MÉCANISME DE LA CLARIFICATION SANGUINE

La clarification sanguine est un témoignage du rôle primordial des lipoprotéines sanguines dans le métabolisme lipidique.

C'est en 1943 que HAHN [21] met en évidence le rôle de l'héparine dans la clarification *in vivo* d'un plasma opalescent obtenu après un repas riche en graisses.

Puis, en 1950, ANDERSON et FAWCETT [2] provoquent par injection d'héparine l'apparition d'une substance « antichylomicronémique » qui semble être un complexe phospholipidique. L'action de ce complexe est étudiée *in vitro* en mélangeant du sang lipémique avec du sang non lipémique d'un animal ayant reçu une injection d'héparine ; on observe une clarification progressive, ce qui prouve l'existence de cette substance antichylomicronémique dans le sang hépariné, car l'héparine, à elle seule, est incapable de clarifier un sang lipémique ou une émulsion de triglycérides.

Il nous faut à ce stade citer les travaux d'ANFENSEN et BOYLE [1] qui ont apporté la dénomination de « facteur clarifiant » (*clearing factor*), de même que ceux de CARLSON et WADSTROM [13], et ceux de SHORE, NICHOLS et FREEMAN [40]. Ces derniers mirent en évidence l'action lipolytique d'un plasma humain obtenu après injection intraveineuse d'héparine. Ce plasma humain hépariné peu auparavant, ajouté à des lipoprotéines pendant quatre à huit heures à 37°C, provoque l'hydrolyse du complexe triglycéridique des lipoprotéines avec libération simultanée d'acide gras. Le sérum de mêmes individus non hépariné ne produit pas la même réaction. D'autre part, le chauffage du sérum hépariné empêche la venue du phénomène.

GROSSMAN, PALM, BECKER et MOELLER [19] ont étudié l'action de l'héparine sur du plasma lipémique et non lipémique. Une injection d'héparine provoque une augmentation modérée des acides gras libres du plasma chez le rat mis au jeûne et une augmentation très marquée chez le rat rendu hyperlipémique par l'administration peu auparavant de 2 ml d'huile de maïs par voie digestive.

Le travail de GORDON, BOYLE, BROWN, CHERKES et ANFENSEN [18] apporta un élément nouveau : l'albumine du sérum stimule la clarification d'émulsions d'huile de noix de coco, obtenue par addition de plasma post-hépariné. Ce résultat est dû à la faculté qu'a l'albumine de retirer de la solution les acides gras produits pendant la réaction.

NIKKILA [38], ROBINSON [39] sont arrivés à la même idée quant au rôle de l'albumine. MC DANIEL [34] confirme lui aussi la valeur de ces résultats : lorsqu'on met à incuber du plasma post-hépariné avec une émulsion de triglycérides marqués au ^{14}C , l'électrophorèse sur papier montre que l'activité ^{14}C migre pour une part importante avec la fraction albumine.

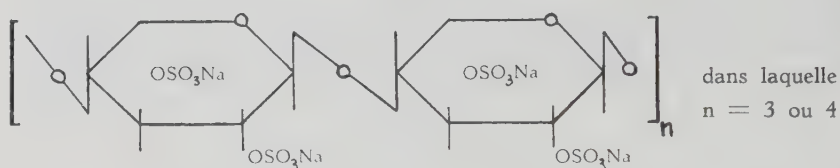
En France, MAY [35], par une autre voie, retrouve des résultats parfaitement en accord avec ceux des précédents auteurs. Dans une phase initiale, il détermine l'aptitude de l'albumine à fixer de l'éosine. Par mesure spectrophotométrique, il constate que cette aptitude diminue quand l'albumine fixe des acides gras : il s'agit d'une fixation

Au terme de cet historique sur la progression des connaissances relatives à la clarification sanguine, on peut attribuer à l'héparine un rôle d'activateur du phénomène. Certains auteurs ont été amenés à étudier un corps de constitution chimique voisine. Ces travaux, ainsi que notre étude personnelle, feront l'objet de la seconde partie de cet exposé.

CHAPITRE SECOND

I. — INTRODUCTION

Le 8061 CB est une substance semi-synthétique qui est un polyester sulfurique de pentosane obtenu par dégradation ménagée suivie d'estérification de xylanes naturels, et constitué pour 80 % au moins d'un polymère du D-xylane auquel on peut attribuer la structure suivante :



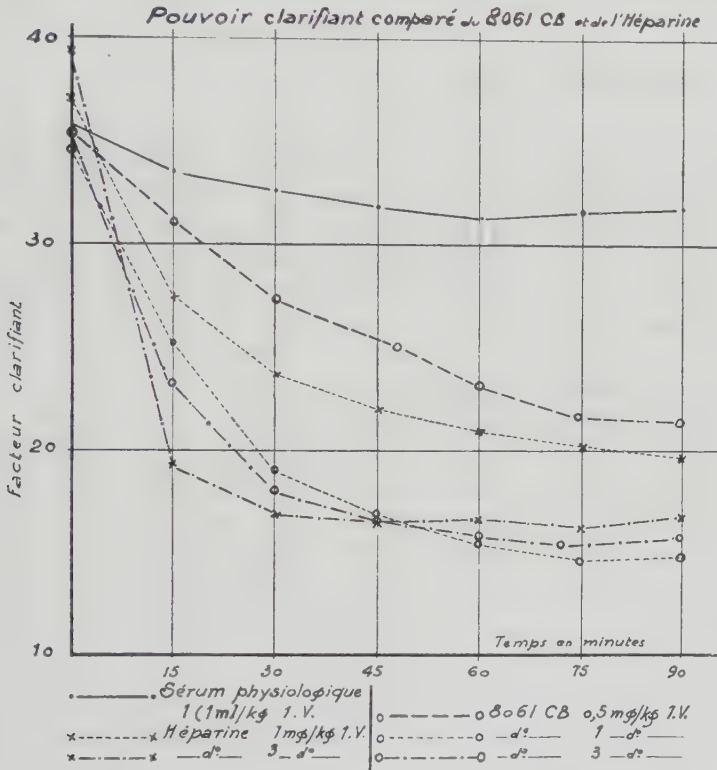
Comme l'utilisation principale de l'héparine — de composition voisine — est due à son rôle anticoagulant, on a tout d'abord voulu connaître l'effet de ce nouveau produit sur la coagulation sanguine. Des conclusions non encore publiées, il ressort que le pouvoir anticoagulant du 8061 CB est beaucoup plus faible que celui de l'héparine. Les auteurs qui se sont penchés sur ce problème (BRUNAUD et coll.) ont pu mettre en évidence l'action *in vitro* du 8061 CB dans la clarification sanguine selon la technique suivante. On récolte du plasma hyperlipémique de rats gavés quatre heures auparavant avec de l'huile d'arachide ou du saindoux fondu, plasma prélevé en saignant à blanc les animaux, en recueillant ce sang sur du citrate de soude, puis en centrifugeant la préparation ainsi obtenue. A titre d'exemple, nous pouvons citer une des expériences ayant trait à ce problème.

Des rats mâles adultes sont divisés en 6 lots :

- 1 lot témoin recevant une injection de soluté à 9‰ de chlorure de sodium (1 ml/kg de poids vif) par voie intraveineuse ;
- 2 lots traités à l'héparine à 1 mg/kg et à 3 mg/kg injectée par voie intraveineuse ;

— 3 lots traités au 8061 CB à 0,5, 1 et 3 mg/kg injecté par voie intraveineuse.

Quinze minutes après l'injection intraveineuse, les animaux sont saignés à l'aorte, le sang recueilli sur citrate de Na est centrifugé et le plasma est décanté; 1 ml de ce plasma déposé dans un tube à hémolyse est additionné de 1 ml de plasma lipémique et, après un



GRAPHIQUE 1

mélange rapide mais soigneux, on mesure la turbidité au photocolorimètre de Bonet-Maury. Le tube est placé dans un bain-marie à 37°C et la turbidité est mesurée toutes les quinze minutes pendant une heure trente pour cet essai. Les résultats sont représentés dans le *graphique 1*. On constate que la clarification obtenue est proportionnelle à la dose d'héparine ou à celle de 8061 CB injectés et que les résultats obtenus avec l'une ou l'autre substance sont comparables.

II. — RECHERCHES PERSONNELLES

A) OBJET DU TRAVAIL

Nous nous sommes attachés à l'action *in vivo* de ce produit sur l'hyperlipémie chronique du rat maintenu depuis huit mois à un régime riche en graisses.

B) TECHNIQUES UTILISEES

Les études des protéines et des lipoprotéines par électrophorèse, sur les animaux de laboratoire, sont encore peu nombreuses. En particulier, le sérum de rat normal présente une composition assez différente de celle du sérum humain. Les techniques ayant été surtout étudiées en vue de l'application à ce dernier, nous avons donc été amenés à examiner les conditions permettant la meilleure séparation électrophorétique des constituants du sérum de rat.

1) MÉTHODE ET APPAREILLAGE

La méthode pratiquée est l'électrophorèse de zone qui utilise comme support, pour la migration des protéines, une bande de papier humectée d'une solution tampon. Rappelons que l'électrophorèse sur papier ne permet pas des mesures de mobilité absolue, elle peut fournir cependant des données précises mais comparatives.

L'appareil utilisé est celui de J.-P. DUSTIN (fabrication PLEUGER).

Les bandes de papier sont disposées côte à côte sur un support *horizontal* constitué par des fils de nylon tendus sur des cadres en plexiglass. Les extrémités trempent dans la solution tampon d'électrolytes, contenue dans deux cuves en plexiglass communiquant entre elles par un tuyau de caoutchouc. Les électrodes sont placées dans des compartiments concentriques, ce qui limite la diffusion sur le papier des produits secondaires de l'électrolyse.

Une enceinte de matière plastique souple recouvre hermétiquement les cuves et les cadres. L'appareil est placé dans un local à température aussi constante et aussi basse que possible, afin de diminuer l'évaporation. Il est ainsi possible d'appliquer une tension plus élevée tout en maintenant constantes les conditions de l'électrophorèse au cours du déplacement des protéines.

La source d'alimentation en courant continu redressé est groupée en un bloc indépendant de l'appareil de séparation et possède un milliampèremètre pour contrôler le passage du courant et un poten-

tiomètre permettant de régler la tension, celle-ci étant stabilisée par un dispositif approprié.

Nous avons étudié successivement les différentes opérations de l'électrophorèse sur papier des protéines, puis des lipoprotéines du sérum de rat. Après avoir mis en évidence les meilleures conditions de ces séparations effectuées séparément, une technique unique permettant l'obtention simultanée de protéinogrammes et de lipoprotéinogrammes a été définie.

2) ELECTROPHORÈSE SUR PAPIER DES LIPOPROTÉINES DU SÉRUM

a) *Choix du tampon :*

La charge d'une protéine dépendant du pH du solvant support, les protéines chargées négativement vont se déplacer vers l'anode si un solvant basique est utilisé. Il a été choisi un tampon véronal-acétate de pH = 8,6 et de force ionique $\mu = 0,1$.

La quantité de tampon utilisé doit être la même d'une expérience à l'autre, la tension par centimètre de la portion libre des papiers devant être maintenue constante. Des résultats satisfaisants ont été obtenus avec 1,5 litre de tampon pour une alimentation de 120 volts aux électrodes.

b) *Choix du papier :*

Les papiers les plus utilisés en électrophorèse sont le Whatman n° 1 et le Schleicher et Schull 2043 a. Ces deux papiers nous ont donné de bons résultats. Toutefois, le Schleicher et Schull 2043 a nous a permis d'obtenir une meilleure séparation des β et γ -globulines sériques chez le rat et a été également choisi pour les lipidogrammes.

Les bandes de papier sont saturées de tampon, puis essorées sur plusieurs épaisseurs de papier filtre pendant dix minutes. On réalise ainsi une humidification homogène, facteur important si l'on veut obtenir des migrations identiques d'une expérience à l'autre.

c) *Dépôt du sérum :*

Certains auteurs préconisent 50 μ l pour les sérums d'animaux. Après avoir fait des essais avec 50, 70, 100 et 150 μ l, nous avons adopté ce dernier volume, les plus petits volumes nous ayant donné une coloration insuffisante avec le sérum de rat. Il y a cependant une difficulté à déposer une telle quantité sur 3 cm de largeur. Nous utilisons à cet effet des pipettes coudées (Prolabo) de 50 μ l. Le dépôt est fait en trois fois, une nouvelle application de sérum n'étant effectuée qu'après absorption complète de la précédente par le papier.

En ce qui concerne le point du départ du sérum, des essais ont été réalisés en déposant ce dernier respectivement à 10, 12 et 14 cm de l'extrémité de la bande.

Les résultats suivants ont été obtenus : lorsque le dépôt est à 10 cm, la courbe présente trois aires distinctes : un premier sommet, celui des α -lipoprotéines ; un second, peu important chez le rat, celui des β -lipoprotéines ; et une dernière fraction mal séparée de la précédente donnant à la lecture une ligne accidentée, et appelée par certains auteurs, fraction β lente.

Pour un dépôt à 12 et 14 cm, les fractions β rapide et β lente sont confondues. Puisque les propriétés de la fraction β lente diffèrent de celles de la fraction β principale, et que d'autre part, les protéinogrammes et les lipidogrammes doivent être préparés parallèlement, toutes les expériences ont été faites avec un point de départ situé à 10 cm de l'extrémité cathodique des bandes.

d) Tension appliquée et durée de l'électrophorèse :

Nous avons essayé d'appliquer aux lipidogrammes sériques de rat les indications de HAAG qui a observé la migration des lipoprotéines sériques humaines d'heure en heure jusqu'à 15 heures, sous une tension de 110 volts. Cet auteur préconise six heures comme temps optimal. Dans ces conditions, nous n'avons observé aucune séparation entre les fractions α et β .

Par contre, sous une tension de 95 volts et une durée de quatorze heures, la séparation entre les fractions β et α est complète. Toutefois, il a été impossible d'obtenir une séparation nette entre les β -lipoprotéines dites rapides et les β lentes. Dans ces conditions, la migration s'étend sur une longueur de 9 à 10 cm.

e) Révélation du lipidogramme :

— *Séchage* : cette opération est importante, car elle est la meilleure des fixations. Après électrophorèse, les extrémités des bandes qui trempaient dans le tampon sont éliminées afin de stopper les courants liquides, puis les bandes sont abandonnées sur le cadre pendant une heure à la température ambiante. On évite ainsi l'évaporation trop rapide du solvant qui créerait une perturbation dans la séparation des protéines. Les bandes sont ensuite séchées horizontalement un quart d'heure à l'étuve à 100°C.

— *Coloration* : le colorant utilisé est le noir Soudan en solution saturée (0.1 %) dans l'alcool à 60°. Les bandes sont colorées par immersion dans cette solution, pendant trois heures, en récipient clos afin d'éviter l'évaporation du solvant. Le fond du papier est ensuite

décoloré à l'aide de solutions successives d'alcool à 50 %, l'opération étant poursuivie pendant une heure.

Comme le protéinogramme, le lipidogramme est séché à l'air ambiant, mais ici, le temps ne doit pas dépasser une heure, car la coloration est instable ; bleu franc au sortir de la cuve, la teinte devient d'un gris différent suivant les fractions lorsque la bande sèche.

f) Enregistrement :

L'enregistrement direct est réalisé par l'enregistreur d'extinction II de Zeiss. Le papier pincé entre les deux plaques de verre est fixé sur un châssis mobile qui se déplace tous les millimètres au-dessus d'une fente lumineuse de 1 mm de largeur et 3 cm de longueur. La fente est éclairée par une lampe à incandescence munie d'un filtre spécial Fe 54 pour les bandes d'aspect noir ou bleu (Amidoblack et noir Soudan B). Une cellule photoélectrique enregistre les variations de coloration le long de la bande de papier, et les transmet à un système traceur.

Afin d'obtenir un meilleur contraste à l'enregistrement, il est nécessaire auparavant de rendre transparentes les bandes de papier en les imprégnant d'un liquide huileux (méthode de Grassman et Hanning). Mais il convient d'employer des agents d'imbibition dont l'indice de réfraction $n_D = 1,51$ correspond à celui de la cellulose et qui ne dissolvent pas le colorant employé. A cet effet, la glycérine, l'huile de vaseline et l'huile de paraffine ont été essayées respectivement. Les conditions ci-dessus sont réalisées, dans le cas des protéinogrammes, avec un mélange 5/1 d'huile de paraffine et d' α -bromonaphtalène ($D = 1,51$).

Sur une feuille de papier millimétrique, on obtient ainsi le diagramme représentant les variations de concentration en protéines sur toute la longueur de la bande expérimentale.

La complexité de la courbe obtenue au niveau des α_1 et α_2 -globulines ne permet pas une décomposition gaussienne. Nous avons donc effectué la planimétrie des différentes fractions déterminées par la méthode des parallèles. La planimétrie partielle est ensuite contrôlée par la planimétrie totale et les différentes fractions sont exprimées en valeurs relatives.

3) ELECTROPHORÈSE SIMULTANÉE DES PROTÉINES ET DES LIPO-PROTÉINES

Afin de comparer simultanément lipidogramme et protéinogramme, il a d'abord été essayé de réaliser la migration sur la même bande de

papier. A cet effet, le sérum a été déposé sur des bandes de papier Schleicher de 10 cm de large, de la manière suivante : à 5 mm du bord de la bande, un premier dépôt de 10 mm³ sur 4 cm, en vue de la révélation des protéines, et après un espace libre de 1 cm, un deuxième dépôt de 150 mm³ sur 4 cm également, réservé au lipidogramme. Après électrophorèse, chaque bande est partagée en deux parties sur lesquelles il a été procédé aux colorations respectives. Cette méthode présente un inconvénient en ce qui concerne les lipidogrammes. Pendant le dépôt, le sérum s'étale par diffusion sur une largeur supérieure à 4 cm. L'intensité de la coloration mesurée ne correspond pas à la quantité de sérum déposé, ce qui amène une erreur par défaut à la photométrie.

Cette technique a donc été abandonnée, et le papier a été coupé en deux bandes identiques avant le dépôt du sérum dans les mêmes conditions que ci-dessus.

Tension appliquée et durée de l'électrophorèse :

Les meilleures conditions retenues pour l'obtention des protéinogrammes (120 volts - 15 heures) ont d'abord été appliquées en vue de la révélation des lipoprotéines. Mais il apparaît que celles-ci migrent sur une trop grande longueur ; les séparations sont donc moins nettes.

Il a paru alors préférable d'adapter à l'électrophorèse des protéines les paramètres qui avaient été définis comme les plus satisfaisants pour l'obtention des lipidogrammes (95 volts - 14 heures). Dans ce cas, les protéinogrammes présentent toujours une séparation suffisante des diverses globulines, mais l'albumine se détache moins nettement des α -globulines. Toutefois, les résultats obtenus répondent mieux au but recherché.

C) PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Nous avons cherché à mettre en évidence l'activation par le 8061 CB du « phénomène de clarification *in vivo* ». A cet effet, nous avons étudié l'action de ce produit sur l'hyperlipémie chronique du rat maintenu depuis sept ou huit mois à un régime riche en graisses. Il y eut deux essais qui ont consisté principalement en l'étude de lipidogrammes de rats soumis à un régime hyperlipidique comparativement à ceux d'animaux nourris de la même façon et traités soit à l'héparine, soit au 8061 CB, et enfin à ceux de rats nourris avec un régime normal.

Le régime expérimental avait la composition suivante :

— Saindoux (ou huile de pépin de raisin)	30 g
— Viande de cheval hâchée	18 g
— Caséine alimentaire	18 g
— Blé moulu	20 g
— Cholestérol	1,75
— Mélange salin	1,75

Un supplément de vitamine A était alloué à raison de 75 unités deux fois par semaine. La composition de ce régime est celle des régimes utilisés par BRUNAUD, JACQUOT et TRÉMOLIÈRES [11, 23, 24, 41] dans leurs études de l'athérome expérimental. On peut faire à ce régime les mêmes remarques que précédemment (cf. *Introduction*). L'apport des calories se fait pour 66 % par les lipides et 22 % par les protéines. Ce régime est suffisamment appétissant pour que les rats en aient une consommation de 30 % environ supérieure à celle des animaux nourris avec un régime normal.

D) RESULTATS EXPERIMENTAUX

• PREMIER ESSAI

Dans un premier essai, l'électrophorèse du sérum pratiquée chez des rats maintenus à ce régime pendant sept-huit mois montre une modification nette et significative des lipidogrammes par rapport à ceux des animaux recevant un régime normal (biscuits, carottes, etc.), à savoir : accroissement de la surface totale du lipidogramme, augmentation considérable des β -lipoprotéines avec diminution simultanée du pourcentage des α -lipoprotéines.

Il nous a semblé intéressant de soumettre ces rats hyperlipémiques à un traitement prolongé par le 8061 CB et d'étudier les modifications éventuelles de leurs lipidogrammes.

L'essai a été entrepris chez 18 rats mâles de 300-350 g dont :

- 8 ont reçu un régime gras à base d'huile de pépin de raisin ;
- 10 ont reçu un régime gras à base de saindoux.

Après un premier lipidogramme, les animaux furent séparés en deux lots :

Lot témoin comportant :

- 4 rats au régime à base d'huile de pépin de raisin ;
- 5 rats au régime à base de saindoux

recevant une injection quotidienne de sérum physiologique (5 ml/kg poids vif I.P.).

— *Lot traité* comportant :

— 4 rats au régime à base d'huile de pépin de raisin ;

— 5 rats au régime à base de saindoux

recevant une injection quotidienne (I.P.) de 8061 CB (3 mg/kg de poids vif).

Le traitement a duré trois semaines. A la fin de la première semaine, nous avons pratiqué l'électrophorèse du sérum des animaux des deux lots.

Nous n'avons constaté aucune modification chez les animaux témoins (surface totale et rapport des différentes fractions). Chez les animaux traités au 8061 CB, nous avons pu voir une diminution de la surface totale, un abaissement du pourcentage des β -lipoprotéides et corrélativement une augmentation de la fraction α . Aussi l'expérience a-t-elle été poursuivie.

L'électrophorèse du sérum pratiquée après trois semaines de traitement nous a donné les résultats suivants :

— chez les animaux témoins, aucune modification du diagramme électrophorétique ;

— chez les animaux traités, la diminution de la surface totale du lipodogramme s'est accentuée, ainsi que la diminution de la proportion des β -lipoprotéides avec accroissement de la fraction α .

Les résultats obtenus sont hautement significatifs. Le calcul statistique a montré une probabilité $< 0,001$. L'ensemble de nos résultats est exposé dans le *Tableau I* (animaux témoins) et le *Tableau II* (animaux traités).

• EN CONCLUSION, l'administration pendant trois semaines de 8061 CB à des rats soumis depuis huit mois à un régime hyperprotidique et hyperlipidique a entraîné une amélioration considérable du diagramme électrophorétique lipidique du sérum de ces animaux bien que le régime n'ait pas été modifié.

Tableau I

**Diagramme électrophorétique (lipidogramme)
de sérum de rats soumis à un régime hypergras**

TÉMOINS — RÉGIME AU SAINDOUX

	<i>Avant</i>	<i>Après 1 semaine</i>	<i>Après 3 semaines</i>
RAT N° 1			
Surface totale	1.280	1.440	1.520
Pourcentage des diverses fractions :			
— α	5	6	4
— β rapide	62	62	63
— β lent	33	32	33
RAT N° 2			
Surface totale	800	720	720
Pourcentage des diverses fractions :			
— α	8	7	5
— β rapide	67	73	73
— β lent	25	20	22
RAT N° 3			
Surface totale	680	600	520
Pourcentage des diverses fractions :			
— α	15	16	12
— β rapide	63	60	63
— β lent	22	24	25
RAT N° 4			
Surface totale	760	760	800
Pourcentage des diverses fractions :			
— α	14	15	16
— β rapide	60	61	58
— β lent	26	24	26
RAT N° 5			
Surface totale	1.080	1.080	1.200
Pourcentage des diverses fractions :			
— α	10	11	8
— β rapide	62	63	64
— β lent	28	26	28

Tableau I (suite)

TÉMOINS — RÉGIME A L'HUILE DE PÉPIN DE RAISIN

	<i>Avant</i>	<i>Après 1 semaine</i>	<i>Après 3 semaines</i>
RAT N° 6			
Surface totale	440	460	400
Pourcentage des diverses fractions :			
— α	14	15	15
— β rapide	66	65	65
— β lent	20	20	20
RAT N° 7			
Surface totale	440	540	440
Pourcentage des diverses fractions :			
— α	20	23	23
— β rapide	56	58	58
— β lent	24	19	19
RAT N° 8			
Surface totale	400	520	400
Pourcentage des diverses fractions :			
— α	15	16	15
— β rapide	60	62	59
— β lent	25	22	26
RAT N° 9			
Surface totale	800	760	760
Pourcentage des diverses fractions :			
— α	6	6	7
— β rapide	65	65	64
— β lent	29	29	29

Tableau II

**Diagramme électrophorétique (lipidogramme)
de sérum de rats soumis à un régime hypergras
et au 8061 CB à la dose de 3 mg/kg/jour**

8061 C.B. — RÉGIME AU SAINDOUX

	<i>Avant</i>	<i>Après 1 semaine</i>	<i>Après 3 semaines</i>
RAT N° 11			
Surface totale	720	500	480
Pourcentage des diverses fractions :			
— α	11	23	30
— β rapide	66	54	52
— β lent	23	23	18
RAT N° 12			
Surface totale	680	440	400
Pourcentage des diverses fractions :			
— α	4	11	14
— β rapide	63	57	57
— β lent	33	32	29
RAT N° 13			
Surface totale	560		320
Pourcentage des diverses fractions :			
— α	6		32
— β rapide	62		51
— β lent	32		17
RAT N° 14			
Surface totale	1.080	640	400
Pourcentage des diverses fractions :			
— α	15	15	15
— β rapide	57	53	58
— β lent	28	32	27
RAT N° 15			
Surface totale	760	500	380
Pourcentage des diverses fractions :			
— α	5	21	25
— β rapide	65	55	57
— β lent	30	24	18

Tableau II (suite)

8061 C.B. — RÉGIME A L'HUILE DE PÉPIN DE RAISIN

	<i>Avant</i>	<i>Après 1 semaine</i>	<i>Après 3 semaines</i>
RAT N° 16			
Surface totale	520	400	320
Pourcentage des diverses fractions :			
— α	9	26	34
— β rapide	67	52	48
— β lent	24	22	18
RAT N° 17			
Surface totale	540	460	340
Pourcentage des diverses fractions :			
— α	9	19	44
— β rapide	67	61	38
— β lent	24	20	18
RAT N° 18			
Surface totale	920	720	580
Pourcentage des diverses fractions :			
— α	6	14	18
— β rapide	68	62	62
— β lent	26	24	20
RAT N° 19			
Surface totale	1.000	1.160	640
Pourcentage des diverses fractions :			
— α	3	5	11
— β rapide	72	71	65
— β lent	25	24	24

• SECOND ESSAI

Dans un second essai, l'électrophorèse du sérum, pratiquée chez ces rats maintenus pendant sept mois à ce régime hypergras, montre une modification profonde des lipidogrammes par rapport à ceux des animaux recevant un régime normal (biscuits, carottes, etc.), caractérisée essentiellement par une réduction presque totale des α -lipoprotéines avec une augmentation considérable des β -lipoprotéines. La surface totale des lipidogrammes n'est pas constante d'un jour à l'autre et présente des variations individuelles importantes.

Nous avons poursuivi l'étude des modifications éventuelles des lipidogrammes de ces rats hyperlipémiques lorsqu'ils sont soumis pendant trois semaines à un traitement prolongé par le 8061 CB en les comparant à des rats traités par l'héparine.

Après un premier lipidogramme, 18 rats mâles de 300-350 g furent répartis en trois lots :

- *Lot témoin* comportant 6 rats recevant une injection quotidienne (I.P.) de sérum physiologique (5 ml/kg de poids vif).
- *Lot traité à l'héparine* recevant une injection quotidienne (I.P.) de 5 mg/kg de poids vif.
- *Lot traité au 8061 CB* recevant une injection quotidienne (I.P.) de 5 mg/kg de poids vif.

A la fin du traitement de trois semaines, nous avons pratiqué l'électrophorèse du sérum des animaux des trois lots. L'ensemble de nos résultats est exposé dans les *Tableaux III, IV et V*, où il peut être observé les faits suivants :

Chez les animaux traités au 8061 CB, nous avons pu voir une diminution souvent considérable de la surface totale du lipidogramme, un abaissement du pourcentage des β -lipoprotéides et corrélativement une augmentation de la fraction α . Par contre, chez les animaux traités à l'héparine, il n'est apparu aucune modification significative du diagramme électrophorétique.

• EN CONCLUSION, l'administration I.P. pendant trois semaines de 8061 CB (5 mg/kg) à des rats soumis depuis sept mois à un régime hypergras a entraîné une amélioration considérable du diagramme électrophorétique lipidique du sérum de ces animaux bien que le régime n'ait pas été modifié.

Tableau III

**Diagramme électrophorétique (lipidogramme)
de sérum de rats soumis à un régime hypergras**

	<i>Avant</i>	<i>Après 3 semaines</i>
RAT N° 1 — VDP		
Surface totale	450	440
Pourcentage des diverses fractions :		
— α	18	22
— β rapide	60	55
— β lent	22	23
RAT N° 2 — DQPPA		
Surface totale	400	220
Pourcentage des diverses fractions :		
— α	9	17
— β rapide	67	60
— β lent	24	23
RAT N° 3 — QDD		
Surface totale	510	520
Pourcentage des diverses fractions :		
— α	7	7
— β rapide	71	69
— β lent	22	24
RAT N° 4 — VDD		
Surface totale	640	430
Pourcentage des diverses fractions :		
— α	22	20
— β rapide	53	59
— β lent	25	21
RAT N° 5 — DG		
Surface totale	680	300
Pourcentage des diverses fractions :		
— α	22	26
— β rapide	52	52
— β lent	26	22
RAT N° 6 — DVPD		
Surface totale ..	1.100	430
Pourcentage des diverses fractions :		
— α	25	30
— β rapide	53	51
— β lent	22	19

Tableau IV

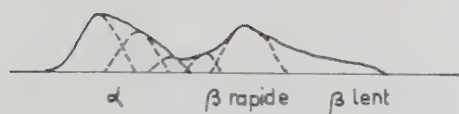
Diagramme électrophorétique (lipidogramme)
de sérum de rats soumis à un régime hypergras
et à l'héparine à la dose de 5 mg/kg/jour

	Avant	Après 3 semaines
RAT N° 7 — DPPA		
Surface totale	480	300
Pourcentage des diverses fractions :		
— α	24	32
— β rapide	56	48
— β lent	20	20
RAT N° 8 — DVPPA		
Surface totale	490	340
Pourcentage des diverses fractions :		
— α	9	28
— β rapide	65	50
— β lent	26	22
RAT N° 9 — DVPA		
Surface totale	600	660
Pourcentage des diverses fractions :		
— α	14	13
— β rapide	70	67
— β lent	16	20
RAT N° 10 — PAD		
Surface totale	800	420
Pourcentage des diverses fractions :		
— α	12	13
— β rapide	62	62
— β lent	26	25
RAT N° 11 — VPD		
Surface totale	1.200	1.460
Pourcentage des diverses fractions :		
— α	14	12
— β rapide	60	64
— β lent	26	24
RAT N° 12 — DD		
Surface totale	1.800	1.360
Pourcentage des diverses fractions :		
— α	24	23
— β rapide	53	54
— β lent	23	23

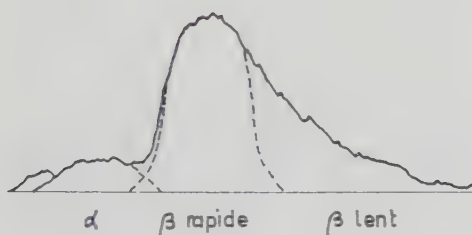
Tableau V

**Diagramme électrophorétique (lipidogramme)
de sérum de rats soumis à un régime hypergras
et au 8061 CB à la dose de 5 mg/kg/jour**

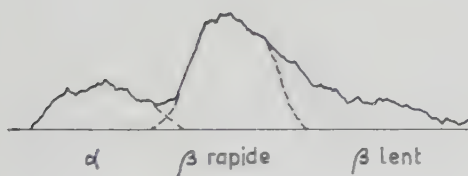
	<i>Avant</i>	<i>Après 3 semaines</i>
RAT N° 13 — QDG		
Surface totale	400	280
Pourcentage des diverses fractions :		
— α	17	26
— β rapide	60	51
— β lent	23	23
RAT N° 14 — DPAG		
Surface totale	400	160
Pourcentage des diverses fractions :		
— α	11	23
— β rapide	63	54
— β lent	26	23
RAT N° 15 — DVPG		
Surface totale	510	350
Pourcentage des diverses fractions :		
— α	14	30
— β rapide	63	52
— β lent	23	18
RAT N° 16 — PAG		
Surface totale	910	210
Pourcentage des diverses fractions :		
— α	11	19
— β rapide	64	60
— β lent	25	21
RAT N° 17 — TPP		
Surface totale	990	280
Pourcentage des diverses fractions :		
— α	16	34
— β rapide	59	51
— β lent	25	15
RAT N° 18 — VPAG		
Surface totale	1.450	300
Pourcentage des diverses fractions :		
— α	18	26
— β rapide	57	49
— β lent	25	25



Lipidogramme de sérum de rat
nourri avec un régime normal



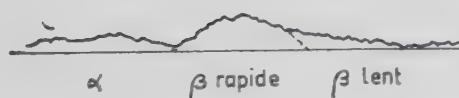
Lipidogramme de sérum de rat
nourri avec un régime hyper-
lipidique depuis 7 mois
(1^{er} exemple)



Lipidogramme de sérum de rat
nourri avec un régime hyper-
lipidique depuis 7 mois
(2^e exemple)



Lipidogramme de sérum de rat
nourri avec un régime hyper-
lipidique depuis 7 mois,
après 3 semaines d'injection
d'héparine à la dose de
5 mg/kg



Lipidogramme de sérum de rat
nourri avec un régime hyper-
lipidique depuis 7 mois,
après 3 semaines d'injection
de 8061 C.B. à la dose de
5 mg/kg

De ces deux séries d'expérimentations, nous pouvons conclure que cet héparinoïde a une action très importante dans la clarification sanguine. Dans les deux essais, les diagrammes électrophorétiques accusent un retour à la normale en cas de traitement avec le 8061 CB. En effet, nous pouvons comparer les diagrammes obtenus chez des rats normaux, chez des rats présentant une hyperlipémie sanguine, chez des rats nourris avec le régime hyperlipidique et hyperprotidique traités avec de l'héparine ou du 8061 CB. Pour illustrer cette comparaison, nous rapprocherons les lipidogrammes de sérum de rats choisis tels qu'ils soient représentatifs du lot auquel ils appartiennent.

Ce polyester sulfurique de pentosane possède donc de précieuses qualités clarifiantes. Son efficacité semble même très supérieure à celle de l'héparine. Aussi est-il possible que son mécanisme d'action ne soit pas celui d'activateur de la lipoprotéine-lipase comme c'est le cas pour l'héparine. Des travaux en cours (BRUNAUD, RAVEUX et coll.) étudient ce problème et apporteront un élément nouveau à nos connaissances sur ce problème.

CONCLUSIONS

L'examen de cet exposé nous amène aux conclusions suivantes :

D'après certains travaux en cours (BRUNAUD et coll.), le mucopolysaccharide 8061 CB déterminerait un « phénomène de clarification sanguine » semblable à celui que provoque l'héparine (ANDERSON [2]).

Si l'on mélange 1 ml de plasma provenant de rat ayant reçu quinze minutes auparavant une injection d'une solution de ce nouveau produit et 1 ml de plasma lipémique opalescent, la turbidité de ce dernier est fortement diminuée et la clarification obtenue est analogue à celle qui est obtenue dans les mêmes conditions par l'héparine.

Nous avons alors entrepris l'étude de l'action *in vivo* de ce mucopolysaccharide sur l'hyperlipémie chronique du rat maintenu depuis de longs mois à un régime athérogène.

Dans un premier temps, nous avons déterminé le diagramme électrophorétique des lipoprotéines sériques de ces rats et l'avons comparé à celui de rats nourris avec un régime normal.

Nous avons soumis ces rats en régime hyperlipidique à un traitement prolongé de 8061 CB. Une première expérience nous a conduit à pratiquer des injections intrapéritonéales du produit à la dose de 3 mg/kg de poids vif, quotidiennement pendant trois semaines.

Une seconde expérience nous a permis de comparer *in vivo*, à la dose quotidienne de 5 mg/kg de poids pour chacune des substances, l'action de l'héparine d'une part et de ce nouveau produit d'autre part.

De ces deux séries d'expérimentation, il ressort que :

— L'administration pendant trois semaines du 8061 CB à la dose de 3 mg/kg à des rats soumis depuis huit mois à un régime hyperlipidique, a entraîné une amélioration considérable du diagramme électrophorétique quant à la distribution des lipides sériques de ces animaux. Pendant la durée de ces essais, il n'y a eu, évidemment, aucun changement de régime.

— Sur des rats maintenus depuis sept mois à un régime hyperlipidique, l'administration d'héparine par voie intrapéritonéale à la

dose de 5 mg. kg de poids n'a entraîné qu'une légère modification du diagramme électrophorétique, tandis que l'administration dans les mêmes conditions du 8061 CB a amené un retour vers la normale des diagrammes des lipoprotéines sériques du rat.

En résumé, nous pouvons conclure que ce nouveau produit a la possibilité de faire apparaître dans le sang des propriétés clarifiantes qui diminuent *in vitro* la turbidité d'un sérum hyperlipémique. Il possède d'autre part la propriété intéressante qui consiste, lors d'administration prolongée, de modifier le diagramme électrophorétique d'animaux soumis depuis de nombreux mois à un régime riche en graisses.

Vu, le Doyen :
BINET

Vu, le Président de Thèse :
PARROT

le Recteur de l'Académie de Paris :
Vu et Permis d'imprimer,
ROCHE

BIBLIOGRAPHIE

1. ANFINSEN (C.B.), BOYLE (E.) et BROWN (R.K.). — The role of heparin in lipoprotein metabolism. (*Science*, 1952, 115, 583-586.)
2. ANDERSON (N.G.) et FAWCETT (B.). — A antichylomicronemic substance produced by heparin injection. (*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1950, 74, 768-771.)
3. ANDERSON (J.T.) et KEYS (A.). — Dietary fat and serum cholesterol. (*Fed. Proc.*, 1953, 12, 169.)
4. ANDERSON (J.T.), KEYS (A.) et GRANDE (F.). — The effects of different food fats on serum cholesterol concentration in man. (*J. Nutr.*, 1957, 62, 421-443.)
5. BALATRE (P.) et MERLEN (J.F.). — Facteurs lipotropes et artériosclérose expérimentale. (*Gazette Médicale de France*, 1952, 59, 393-396.)
6. BARR (D.P.), RUSS (E.M.), EDER (H.A.). — Protein-lipid relationships in human plasma in atherosclerosis and related conditions. (*Am. J. Med.*, 1951, 11, 480-483.)
7. BERNFELD (P.). — The lipoproteins. Methods and clinical significance. (Edit. by F.H. Homburger - P. Bernfeld Karger, Bâle - New York, 1958.)
8. BERNFELD (P.), BERKOWITZ (M.E.), DONAHUE (V.M.). — A simple nephelometric method for the determination of human serum β -lipoprotein. (*J. Clin. Invest.*, 1957, 36, 1363-1369.)
9. BRONTE-STEWART (B.), KEYS (A.) et BROCK (J.F.) [avec MOODIE (A.D.), KEYS (M.D.) et ANTONIS (A.)]. — Serum cholesterol, diet, and coronary heart disease. An interracial survey in the Cape Peninsula. (*Lancet*, 1955, 269, 1103-1108.)
10. BROZEK (J.) and KEYS (A.). — Overweight, obesity and coronary heart disease. (*Geriatrics*, 1957, 12, 79-87.)
11. BRUNAUD (M.), TRÉMOLIÈRES (J.), MÉLIK (T.), SÉGAL (V.). — Hypertension et artériosclérose chez le rat par un régime hyperlipidique et hyperprotéique. (*C.R. Ac. Sci.*, 1958, 246, 1284-1286.)
12. BURNSTEIN (M.) et SAMAILLE (J.). — Sur une nouvelle méthode de dosage des lipoprotéines sériques par l'héparine. (*C.R. Ac. Sci.*, 1956, 243, 2185-2187.)

13. CARLSON (L.A.) et WADSTRÖM (L.B.). — Studies of the glycerides during clearing reaction. (*Clinica Chimica Acta*, 1957, 2, 9-15.)
14. COHN (E.J.). — Blood cells and plasma proteins. (New York, Academic Press, 1953.)
15. GERTLER (M.M.), GARN (S.M.), LERMAN (J.). — The interrelationships of serum cholesterol, cholesterol esters and phospholipids in health and in coronary artery disease. (*Circulation*, 1950, 2, 205-214.)
16. GERTLER (M.M.), GARN (S.M.), WHITE (P.D.). — Diet, serum cholesterol and coronary artery disease. (*Circulation*, 1950, 2, 696-704.)
17. GOFMAN (J.W.), LINDGREN (F.T.), JONES (H.B.), LYON (T.P.), SHISOWER (B.). — Lipoproteins and atherosclerosis. (*J. Gerontol.*, 1951, 6, 105-119.)
18. GORDON (R.S. Jr.), BOYLE (E.), BROWN (R.K.), CHERKES (A.) and ANFINSEN (C.B.). — Role of serum albumin in lipemia clearing reaction. (*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1953, 84, 168-170.)
19. GROSSMAN (I.), PALM (L.), BECKER (G.M.), MOELLER (M.C.). — Effect of lipemia and heparin on free fatty acid content of rat plasma. (*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1954, 87, 312-315.)
20. GUBNER (R.S.). — Fatness, fat, and coronary heart disease. (*Nutr. Rev.*, 1957, 15, 353-360.)
21. HAHN (P.F.). — Abolishment of alimentary lipemia following injection of heparin. (*Science*, 1943, 98, 19-20.)
22. HARTROFF (W.S.), RIDOUT (J.M.), SELLERS (E.A.), BEST (C.H.). — Atheromatous changes in aorta, carotid and coronary arteries of choline-deficient rats. (*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1952, 81, 384-393.)
23. JACQUOT (R.), ABRAHAM (J.), PETROVIC (D.), SÉGAL (V.), BRUNAUD (M.), TRÉMOLIÈRES (J.). — Efficacité alimentaire et dépense calorique d'entretien du rat suivant la nature des graisses du régime. (*Nutr. Dieta*, 1959, 1, 214-220.)
24. JACQUOT (R.), ABRAHAM (J.), RAVELUX (R.), BRUNAUD (M.), TRÉMOLIÈRES (J.). — Mobilisation des graisses de réserve suivant la nature des graisses alimentaires chez le rat. (*Nutr. Dieta*, 1959, 1, 221-226.)
25. KATZ (L.N.), STAMLER (J.). — Experimental atherosclerosis. (Thomas édit.)
26. KEYS (A.). — The cholesterol problem. (*Voeding*, 1952, 13, 539-555.)
27. KEYS (A.) et WHITE (P.). — Cardiovascular epidemiology. World trends in cardiology, vol. I. (New York, Horcher-Harner ed.)
28. KORN (E.D.). — Clearing factor, a heparin activated lipoprotein-lipase. (*J. Biol. Chem.*, 1955, 215, 1-14 et 15-26.)
29. KORN (E.D.). — Chemistry of lipids a related to atherosclerosis. (Edit. by I.H. Page Thomas Publisher, 1958.)

30. KUNKEL (M.G.) et TRAUTMAN (R.). — The α_2 -lipoproteins of human serum correlation of ultracentrifugal and electrophoretic properties. (*J. Clin. Invest.*, 1956, 35, 641-648.)
31. LALLA (O.F. DE), GOFMAN (J.W.). — Methods of biochemical analysis. (Edit. by D. Glick, vol. I, New York, Interscience, 1954, pp. 459-478.)
32. LINDGREN (F.F.), FREEMAN (N.K.), NICHOLS (A.V.), GOFMAN (J.W.). — *III^e Colloque Intern. Problèmes biochimiques, lipides.* (Bruxelles, juillet 1956, pp. 224-242.)
33. LE BRETON (E.), FRAYSSINET (Ch.), MAY (P.). — Phénomènes de clarification et de lipolyse d'un plasma lipémique par le plasma de rat hépariné. (*Bull. Acad. Suis. Sc. Méd.*, 1957, 13, 229-238.)
34. MC DANIEL (R.A.) and GROSSMAN (M.I.). — Paper electrophoretic study of ^{14}C fat emulsion cleared from post-heparin rat plasma. (*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1955, 89, 442-443.)
35. MAY (P.). — *Thèse*, Fac. Sci. Paris, 1959.
36. MENG (H.C.), HOUMANS (J.B.). — Effect of heparin on serum lipids following intravenous administration of fat emulsion in dogs. (*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1958, 97, 691-693.)
37. MENG (H.C.) et HOLLET (Ch.). — *III^e Colloque Intern. Problèmes biochimiques, lipides.* (Bruxelles, 1956.)
38. NIKKILA (E.A.) and HAAHTI (E.). — On the mechanism of the heparin induced lipemia clearing reaction. (*Acta Chem. Scand.*, 1954, 8, 363-364.)
39. ROBINSON (D.S.) et FRENCH (J.E.). — The role of albumin in the interaction of chyle and plasma in the rat. (*Quart. J. Expt. Physiol.*, 1953, 38, 233-239.)
40. SHORE (B.), NICHOLS (A.V.), FREEMAN (N.K.). — Evidence for lipolytic action of human plasma obtained after intravenous administration of heparin. (*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1953, 83, 216-220.)
41. TRÉMOLIÈRES (J.), BRUNAUD (M.), MOSSÉ (A.). — Athérosclérose artérielle expérimentale. (*Ann. Nutr. Alim.*, 1959, 13, 615-625.)
42. TRUMMERT (W.). — *Colloque International sur le Cholestérol.* (Centre d'Informations Sanitaires édit., 1961, pp. 65-68.)
43. WILGRAM (G.F.), HARTROFT (W.S.), BEST (C.H.). — Dietary choline and the maintenance of the cardiovascular system in rats. (*Brit. Med. J.*, 1954, 11, 1-5.)
44. WILGRAM (G.F.), HARTROFT (W.S.), BEST (C.H.). — Abnormal lipid in coronary arteries and aortic sclerosis in young rats fed with a choline deficient diet. (*Science*, 1954, 119, 842-843.)
45. WILGRAM (G.F.), LEWIS (L.A.) et BEST (C.H.). — Effect of choline and cholesterol on lipoprotein patterns of rats. (*Circulation Res.*, 1957, 5, 111-114.)



TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	13
CHAPITRE PREMIER	16
<i>Méthodes générales d'étude des lipoprotéines</i>	16
<i>Mécanisme de la clarification sanguine</i>	18
CHAPITRE SECOND	22
<i>Introduction</i>	22
<i>Recherches personnelles</i>	24
CONCLUSIONS	41
BIBLIOGRAPHIE	43

